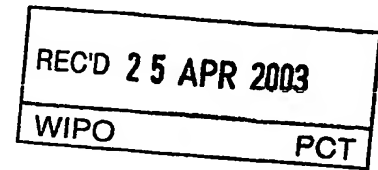


BUNDESREPUBLIK DEUTSCHLAND

PRIORITY DOCUMENT

SUBMITTED OR TRANSMITTED IN
COMPLIANCE WITH RULE 17.1(a) OR (b)



Prioritätsbescheinigung über die Einreichung einer Patentanmeldung

Aktenzeichen: 102 45 059.5

Anmeldetag: 26. September 2002

Anmelder/Inhaber: Curacyte AG, München/DE

Bezeichnung: Hemmstoffe der Urokinase, ihre Herstellung und Verwendung

IPC: C 07 K, A 61 K

Die angehefteten Stücke sind eine richtige und genaue Wiedergabe der ursprünglichen Unterlagen dieser Patentanmeldung.

München, den 6. März 2003
Deutsches Patent- und Markenamt
Der Präsident
Im Auftrag

Wehner

Curacyte AG

26. September 2002
C37296A BÖ/ATe

Hemmstoffe der Urokinase, ihre Herstellung und Verwendung

Die Erfindung betrifft neue Hemmstoffe der Urokinase, ihre Herstellung und
5 Verwendung zur Therapie, Prophylaxe und Diagnose eines Tumors.

Die Ausbreitung und Metastasierung solider Tumoren in umgebendem Gewebe
wird durch ihr Fähigkeit, die extrazelluläre Matrix in der Umgebung der Tumor-
zelle abzubauen bzw. die Basalmembran zu durchdringen, ermöglicht. In diesem
10 Prozess kommt neben verschiedenen Matrixmetalloproteinasen und Cathepsinen
vor allem dem Plasminogenaktivator Urokinase (uPA) eine zentrale Bedeutung zu
(P. Mignatti und D.B. Rifkin, Physiol. Rev. 73, 161-195, 1993). So bewirkt uPA
die Aktivierung von Plasminogen; das entstehende Plasmin kann die Komponen-
ten der extrazellulären Matrix (Fibrin, Fibronectin, Laminin, Proteoglykane u.a.)
15 abbauen sowie Metalloproteasen und pro-Urokinase zu uPA aktivieren (U.
Reuning et al., Int. J. Oncol. 13, 893-906, 1998).

Sowohl pro-Urokinase als auch uPA binden an den uPA-Rezeptor (uPAR), einen
an der Zelloberfläche lokalisierten, spezifischen Rezeptor. Dadurch wird eine
20 Verstärkung und Fokussierung der Aktivität von uPA und damit der Plasmino-
genaktivierung in der direkten Umgebung der Tumorzelle erreicht. Sowohl in
zellbiologischen Studien als auch in Tiermodellen konnte die Bedeutung dieses
zellassozierten Plasminogenaktivator-Systems für Tumorwachstum und -
ausbreitung gezeigt werden. So wird das invasive Potential von Tumorzellen bei
25 Hemmung der enzymatischen Aktivität von uPA durch die natürlichen Inhibitoren
PAI-1 und PAI-2 herabgesetzt (J.-F. Cajot et al., Proc. Natl. Acad. Sci. USA 87,
6939-6943, 1990; M. Baker et al., Cancer Res. 50, 4876-4684, 1990). In Hühner-
embryos konnte durch Zugabe von Antikörpern gegen uPA die durch menschliche

Karzinomzellen verursachte Bildung von Lungenmetastasen fast vollständig verhindert werden (L. Ossowski et al., Cell 35, 611-619, 1983).

- Die Faktoren des Plasminogenaktivator-Systems (uPA, uPAR, PAI-1 und PAI-2) sind in den letzten Jahren in Hinsicht ihrer klinischen Relevanz für die Prognose von Patienten mit soliden malignen Tumoren intensiv untersucht worden. Insbesondere der Gehalt von uPA im Gewebe verschiedener Tumoren erwies sich als ein Prognosefaktor. So haben Patienten mit hohem uPA-Spiegel eine schlechtere Prognose als solche mit niedriger uPA-Konzentration im Tumor (M. Schmitt et al., Thromb. Haemost. 78, 285-296, 1997; R.W. Stephens et al., Breast Cancer Res. Treat. 52, 99-111, 1998). Auch eine erhöhte Konzentrationen an uPAR im Tumorgewebe korreliert mit einer schlechten Prognose (H. Pedersen et al., Cancer Res. 54, 4671-4675, 1994; C. Duggan et al., Int. J. Cancer 61, 597-600, 1995).
- 15 Aus den Befunden zum prognostischen Wert des uPA- und uPAR-Gehaltes im Tumorgewebe kann angenommen werden, dass synthetische uPA-Inhibitoren in der Lage sind, Invasion und Ausbreitung von Tumorzellen zu unterdrücken. Die Zahl der bisher bekannten uPA-Hemmstoffe ist allerdings relativ klein. Die Mehrzahl besitzt nur eine geringe Spezifität und Wirkungsstärke, wie es für verschiedene Benzamidin- und β -Naphthamidin-Derivate zutrifft (J. Stürzebecher und F. Markwardt, Pharmazie 33, 599-602, 1978). Das von Vassalli und Belin (FEBS Letters 214, 187-191, 1997) als uPA-Hemmstoff beschriebene Amilorid ist zwar ein spezifischer, aber schwacher Inhibitor von uPA ($K_i = 7 \mu\text{M}$).
- 20
- 25 Stärker wirksame uPA-Inhibitoren wurden mit 4-substituierten Benzothiophen-2-carboxamidinen ($K_i = 0,16 \mu\text{M}$ für Verbindung 623) gefunden. Hemmstoffe dieses Typs inaktivieren auch uPA, die an uPAR gebunden ist (M.J. Towle et al., Cancer Res. 53, 2553-2559, 1993). Die Benzothiophen-Derivate sind sehr spezifisch, ihre Hemmwirkung gegenüber Plasmin und dem Plasminogenaktivator vom

Gewebetyp (tPA) ist gering, allerdings ist die Synthese von Verbindungen dieses Typs sehr aufwändig.

5 Eine vergleichbare Spezifität haben auch 4-Aminomethylphenylguanidin-Derivative, deren Hemmwirkung gegenüber uPA ($K_i = 2,4 \mu\text{M}$ für die wirksamste Verbindung) allerdings vergleichsweise gering ist (S. Sperl et al., Proc. Natl. Acad. Sci. USA 97, 5113-5118, 2000).

10 Im Gegensatz dazu erreichen $N\alpha$ -Triisopropylphenylsulfonyl-3-amidinophenylalanin-Derivate mikromolare K_i -Werte ($0,41 \mu\text{M}$ für die wirksamste Verbindung), sind allerdings sehr unspezifische uPA-Hemmstoffe, mit gleicher oder stärkerer Wirkung werden Trypsin, Thrombin und Plasmin inhibiert (J. Stürzebecher et al., Bioorg. Med. Letters 9, 3147-3152, 1999). Sehr wirksame uPA-Hemmstoffe sind in der WO 99/05096 mit weiterentwickelten β -Naphthamidinen offenbart. Es werden IC_{50} -Werte im nanomolaren Bereich beschrieben, allerdings keine Anga-
15 ben zur Selektivität und der biologischen Wirksamkeit gemacht.

20 Bisher wurden nur wenige Peptide als uPA-Hemmstoffe beschrieben, die sich von der Substrat-Sequenz ableiten. Kettner und Shaw (Methods in Enzymology, 80, 826-842, 1981) beschrieben Chlormethylketone, die zwar uPA irreversibel hemmen, aber nicht für in vivo-Anwendung geeignet sind.

25 In der EP 18 32 71 sind Lysin-Derivate offenbart, die eine gewisse uPA-Hemmung bewirken, allerdings auch andere vergleichbare Enzyme hemmen und damit nur sehr speziell bzw. eingeschränkt für medizinische Zwecke verwendbar sind. Gleiches gilt für die in der WO 95/17 8 85 als uPA-Inhibitoren beschriebenen niedermolekularen Polypeptide (ca. 50 Aminosäuren), die sich von natürlichen Hemmstoffen ableiten. Auf Grund ihres Peptidcharakters und der Molekülgröße ist ihr in vivo-Einsatz stark eingeschränkt. In jüngster Zeit wurden in

WO 00/05 2 45 Peptidylaldehyde mitgeteilt, die C-terminal ein Arginal und in P3 ein D-Serin enthielten und uPA sehr wirksam hemmten. Nach Acylierung des Ser-Hydroxyl konnte für die Leitverbindung iBuOCO-D-Ser-Ala-Arg-H nach s.c.-Gabe eine relative Bioverfügbarkeit von 87 % beobachtet werden (S. Y. Tamura et al. Bioorg. Med. Chem. Lett. 10, 983-987, 2000). In PCT/EP WO 01/06789 werden Hemmstoffe offenbart, die sich von acyliertem Amidino-benzylamin ableiten und neben einer natürlichen Aminosäure in P2 einen D-Serin oder eine vergleichbare unnatürlichen Aminosäure enthalten. Verbindungen diese Typs hemmen Urokinase ($K_i = 36 \text{ nM}$ für die wirksamste Verbindung) sehr wirksam. Allerdings haben Verbindungen diese Typs nur unzureichende pharmakokinetische Eigenschaften für eine Anwendung in vivo; sie werden nach oraler Gabe kaum resorbiert und im Versuchstier nach i.v.-Gabe sehr schnell aus der Zirkulation eliminiert.

Der Erfindung liegt daher die Aufgabe zu Grunde, einen auch für therapeutische Anwendungen geeigneten Wirkstoff anzugeben, der Urokinase mit hoher Aktivität hemmt und der nach i.v.- oder s.c.-Gabe möglichst lange im Körper zirkuliert.

Überraschend wurde gefunden, dass acyliertes Amidino-benzylamin gemäß der im Patentanspruch 1 angeführten allgemeinen Formel I, insbesondere Verbindungen des 4-Amidino-benzylamins, bei denen R_1 , Y, X, R_2 , R_3 und R_4 natürliche und/oder unnatürliche Aminosäuren ergeben, dann sowohl Urokinase sehr wirksam inaktivieren als auch insbesondere nach i.v.- oder s.c.-Gabe langsam aus der Zirkulation eliminiert werden, wenn neben der Amidinofunktion weitere geladene Gruppen vorzugsweise Carboxyl, Amino, Amidino, Hydroxyamidino, Amidrazono oder Guanidino eingeführt werden. Die Carboxylgruppen können auch geschützt in Form ihrer Ester vorliegen, wobei bevorzugt Ethylester Verwendung finden. Diese Ester werden in vivo teilweise in die freien Säuren umgewandelt.

Besonders geeignete Verbindungen sind in den Unteransprüchen aufgeführt.

Einen besonders bevorzugten Hemmstoff von Urokinase, der besonders langsam eliminiert wird bildet dabei Amidino-benzylamin, wenn die Amidinogruppe in 4-Position steht, als Aminosäuren Glutaminsäure und D-Serin gebunden sind und
5 wenn die Verbindung eine N-terminale Schutzgruppe R₅ aus einem Aryl- bzw. Aralkyl-sulfonyl-Rest aufweist.

Bei einer starken Inaktivierung von Urokinase werden die zusätzlich geladenen 4-Amidino-benzylamin-Derivate auf vorteilhafte und überraschende Weise sehr
10 langsam eliminiert, so dass die erfindungsgemäßen Verbindungen eine neue Gruppe von hochaktiven Urokinase-Hemmstoffen darstellen.

Beispiele für solche Verbindungen sind neben den in den Ausführungsbeispielen genannten:

15 (3-Pyridylmethyl)sulfonyl-dSer-Gly-4-Amidinobenzylamid

(3-Pyridylmethyl)sulfonyl-dSer-Ala-4-Amidinobenzylamid

(3-Pyridylmethyl)sulfonyl-dSer-Ser-4-Amidinobenzylamid

(3-Pyridylmethyl)sulfonyl-dSer-Pro-4-Amidinobenzylamid

20 (4-Pyridylmethyl)sulfonyl-dSer-Ala-4-Amidinobenzylamid

(4-Pyridylmethyl)sulfonyl-dSer-Ser-4-Amidinobenzylamid

(4-Pyridylmethyl)sulfonyl-dSer-Pro-4-Amidinobenzylamid

(2-Pyridylmethyl)sulfonyl-dSer-Gly-4-Amidinobenzylamid

25 (2-Pyridylmethyl)sulfonyl-dSer-Ala-4-Amidinobenzylamid

(2-Pyridylmethyl)sulfonyl-dSer-Ser-4-Amidinobenzylamid

(2-Pyridylmethyl)sulfonyl-dSer-Pro-4-Amidinobenzylamid

((3-(Trifluormethyl)phenyl)methyl)-sulfonyl-dSer-Gly-4-Amidinobenzylamid

((3-(Trifluormethyl)phenyl)methyl)-sulfonyl-dSer-Ala-4-Amidinobenzylamid

5 ((3-(Trifluormethyl)phenyl)methyl)-sulfonyl-dSer-Ser-4-Amidinobenzylamid

((3-(Trifluormethyl)phenyl)methyl)-sulfonyl-dSer-Pro-4-Amidinobenzylamid

((4-(Trifluormethyl)phenyl)methyl)-sulfonyl-dSer-Gly-4-Amidinobenzylamid

((4-(Trifluormethyl)phenyl)methyl)-sulfonyl-dSer-Ala-4-Amidinobenzylamid

10 ((4-(Trifluormethyl)phenyl)methyl)-sulfonyl-dSer-Ser-4-Amidinobenzylamid

((4-(Trifluormethyl)phenyl)methyl)-sulfonyl-dSer-Pro-4-Amidinobenzylamid

2-Cl-Benzylsulfonyl-dSer-Gly-4-Amidinobenzylamid

2-Cl-Benzylsulfonyl-dSer-Ala-4-Amidinobenzylamid

15 2-Cl-Benzylsulfonyl-dSer-Pro-4-Amidinobenzylamid

2-Cl-Benzylsulfonyl-dSer-Ser-4-Amidinobenzylamid

3-Cl-Benzylsulfonyl-dSer-Gly-4-Amidinobenzylamid

3-Cl-Benzylsulfonyl-dSer-Ala-4-Amidinobenzylamid

20 3-Cl-Benzylsulfonyl-dSer-Pro-4-Amidinobenzylamid

3-Cl-Benzylsulfonyl-dSer-Ser-4-Amidinobenzylamid

4-Cl-Benzylsulfonyl-dSer-Ala-4-Amidinobenzylamid

4-Cl-Benzylsulfonyl-dSer-Pro-4-Amidinobenzylamid

4-Cl-Benzylsulfonyl-dSer-Ser-4-Amidinobenzylamid

2-Methyl-Benzylsulfonyl-dSer-Gly-4-Amidinobenzylamid

2-Methyl-Benzylsulfonyl-dSer-Ala-4-Amidinobenzylamid

5 2-Methyl-Benzylsulfonyl-dSer-Pro-4-Amidinobenzylamid

2-Methyl-Benzylsulfonyl-dSer-Ser-4-Amidinobenzylamid

3-Methyl-Benzylsulfonyl-dSer-Gly-4-Amidinobenzylamid

3-Methyl-Benzylsulfonyl-dSer-Ala-4-Amidinobenzylamid

10 3-Methyl-Benzylsulfonyl-dSer-Pro-4-Amidinobenzylamid

3-Methyl-Benzylsulfonyl-dSer-Ser-4-Amidinobenzylamid

4-Methyl-Benzylsulfonyl-dSer-Ala-4-Amidinobenzylamid

4-Methyl-Benzylsulfonyl-dSer-Pro-4-Amidinobenzylamid

15 4-Methyl-Benzylsulfonyl-dSer-Ser-4-Amidinobenzylamid

20 Die Verbindungen liegen in der Regel als Salze, vorzugsweise mit Mineralsäuren, bevorzugt als Hydrochloride, vor oder vorzugsweise als Salze mit geeigneten organischen Säuren.

Die Verbindungen der allgemeinen Formel I können in prinzipiell bekannter Weise, wie nachfolgend beschrieben, beispielsweise wie folgt hergestellt werden:

Aus dem kommerziell erhältlichen 4-Cyanobenzylamin (Showa Denko, Japan) wird das Boc-geschützte 4-Acetyloxamidinobenzylamin nach dem Fachmann bekannten Verfahren gewonnen. Nach Abspaltung der Boc-Schutzgruppe erfolgt die Ankopplung der weiteren Aminosäuren und der Schutzgruppe R₃ mittels Standardkopplungsmethoden mit Boc als N-terminaler Schutzgruppe. Die zweite Aminosäure kann auch direkt als N-aryl- bzw. N-aralkyl-sulfonyl-geschützte Aminosäure gekoppelt werden. Die Peptidanaloga werden sequentiell, beginnend vom Acetyloxamidino-benzylamin, aufgebaut. Die meisten Zwischenprodukte kristallisieren gut und lassen sich damit einfach reinigen. Die Endreinigung der Hemmstoffe erfolgt auf der letzten Stufe vorzugsweise über präparative, reversed-phase HPLC.

Ein weiterer Gegenstand der Erfindung ist ein Arzneimittel enthaltend einen erfindungsgemäßen Hemmstoff sowie weitere pharmazeutisch geeignete Hilfs- und/oder Zusatzstoffe. Geeignete Hilfs- und/oder Zusatzstoffe, die z.B. der Stabilisierung und/oder Konservierung des Arzneimittels dienen, sind dem Fachmann allgemein geläufig (z.B. Sucker H. et al., (1991) Pharmazeutische Technologie, 2. Auflage, Georg Thieme Verlag, Stuttgart). Hierzu zählen beispielsweise physiologische Kochsalzlösungen, Ringer-Dextrose, Ringer-Laktat, entmineralisiertes Wasser, Stabilisatoren, Antioxidantien, Komplexbildner, antimikrobielle Verbindungen, Proteinaseinhibitoren und/oder inerte Gase.

Das Arzneimittel könnte beispielsweise in parenteraler Anwendungsform, insbesondere in intraarterieller, intravenöser, intramuskulärer oder subcutaner Form, in enteraler Anwendungsform, insbesondere zur oralen oder rektalen Anwendung, oder in topischer Anwendungsform, insbesondere als Dermatikum, angewendet werden. Bevorzugt sind intravenöse oder subkutane Anwendungen.

In einer Ausführungsform der Erfindung wird das Arzneimittel beispielsweise in Form einer Tablette, eines Dragées, einer Kapsel, eines Pellets, Suppositoriums,

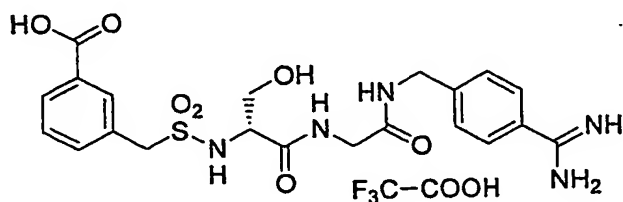
einer Lösung, insbesondere einer Injektions- oder Infusionslösung, von Augen-, Nasen und Ohrentropfen, eines Safts, einer Kapsel, einer Emulsion oder Suspension, eines Globuli, Styli, Aerosols, Puders, einer Paste, Creme oder Salbe eingesetzt.

5

Die Erfindung soll nachstehend anhand von drei Ausführungsbeispielen näher erläutert werden, ohne sie zu beschränken:

Beispiel 1: 3-(HOOC)Benzylsulfonyl-dSer-Gly-4-Amidinobenzylamid x TFA

10



1a) 3-(COOMe)-Benzylsulfonsäure Natrium-Salz

15

5 g (21,1 mmol) 3-(Bromomethyl)Benzoessäuremethylester (Lancaster) wurden in 35 ml Wasser suspendiert und nach Zugabe von 2,94 g (23,3 mmol) Na₂SO₃ 8 h unter Rückfluss gekocht. Der Ansatz wurde heiß filtriert und das Wasser im Vakuum bis zur beginnenden Kristallisation eingengt. Der Ansatz wurde über Nacht im Kühlschrank aufbewahrt, danach wurden die Kristalle abgesaugt und nochmals aus Wasser umkristallisiert. Die Kristalle wurden abgesaugt und im

20

Ausbeute: 3,9 g (15,46 mmol) HPLC: 22,3 % B

1 b) 3-(COOMe)-Benzylsulfonylchlorid

2,5 g (9,91 mmol) 3-(COOMe)-Benzylsulfonsäure Natrium-Salz wurden mit ca. 10 ml Phosphorylchlorid angefeuchtet, mit 2,27 g (10,9 mmol) PCl_5 versetzt und 15 Minuten im Eisbad gerührt. Danach wurde der Ansatz 4 h auf 80 °C erwärmt.

5 Anschließend wurde der Ansatz auf Eis gegossen und 30 min kräftig gerührt, das Produkt schied sich in Form weißer Kristalle auf dem Eis ab. Nachdem das Eis teilweise aufgetaut war, wurde der Ansatz durch eine Fritte filtriert und das verbleibende Produkt-Eis-Gemisch mehrmals mit Wasser gewaschen. Die verbleibenden Kristalle wurden im Vakuum getrocknet.

10 Ausbeute: 1,6 g (6,43 mmol) 65 % (weiße Kristalle)

1c) 3-(COOMe)-Benzylsulfonyl-dSer(tBu)-OH

0,75 g (4,65 mmol) H-dSer(tBu)-OH (Bachem) wurden in 60 ml trockenem DCM suspendiert, mit 1,23 ml (9,765 mmol) Trimethylsilylchlorid und 1,7 ml (9,765 mmol) DIEA versetzt. Der Ansatz wurde 1,0 h unter Rückfluss gekocht und danach im Eisbad abgekühlt. Anschließend wurden 1,27 g (5,12 mmol) 3-(COOMe)-Benzylsulfonylchlorid und 1,04 ml (6 mmol) DIEA in mehreren Portion innerhalb von 30 min zugegeben. Der Ansatz wurde weitere 15 min unter Eiskühlung und danach für 3 h bei Raumtemperatur gerührt. Das Lösungsmittel wurde im Vakuum entfernt, der Rückstand in Wasser (mit 1 N NaOH auf pH 8,5-9 gebracht) gelöst und 2 x mit Ether extrahiert. Die wässrige Phase wurde mit 5 % KHSO_4 -Lösung angesäuert und 3 x mit Essigester extrahiert. Die vereinte Essigesterphase wurde jeweils 3 x mit 5 % KHSO_4 -Lösung und NaCl-gesättigter Lösung gewaschen und mit Na_2SO_4 getrocknet. Anschließend wurde das Lösungsmittel im Vakuum entfernt.

Ausbeute: 1,3 g (3,48 mmol Feststoff), HPLC: 51 % B

1d) H-Gly-4-(Acetyloxamidino)Benzylamid x HCl

2 g (5,49 mmol) Boc-Gly-4-(Acetyloxamidino)Benzylamid (hergestellt wie in WO 01/96286 A2 beschrieben) wurden mit 30 ml 1 N HCl in Eisessig versetzt. Der Ansatz wurde gelegentlich umgeschüttelt. Nach 45 min wurde das Lösungsmittel etwas eingengt und das Produkt durch Zugabe von Diethylether gefällt, auf einer Fritte abgesaugt, mit Ether gewaschen und im Vakuum getrocknet.

Ausbeute: 1,55 g (5,15 mmol), weißer Feststoff

1e) 3-(COOMe)-Benzylsulfonyl-dSer(tBu)-Gly-4-(Acetyloxamidino)Benzylamid
1 g (2,68 mmol) 3-(COOMe)-Benzylsulfonyl-dSer(tBu)-OH und 0,84 g (2,8 mmol) H-Gly-4-(Acetyloxamidino)Benzylamid x HCl wurden unter Rühren und Eiskühlung in 15 ml DMF gelöst und mit 1,39 g (2,68 mmol) PyBop sowie 1,26 ml (7,236 mmol) DIEA versetzt. Nach 30 min wurde das Eisbad entfernt und weitere 4 h bei Raumtemperatur gerührt. Das DMF wurde im Vakuum eingengt, der verbleibende Rückstand in Essigester gelöst und jeweils 3 x mit 5 % KHSO₄, NaCl-gesättigtem Wasser, gesättigter NaHCO₃-Lösung und nochmals mit NaCl-gesättigtem Wasser gewaschen. Die Essigesterphase wurde mit Na₂SO₄ getrocknet und anschließend das Lösungsmittel im Vakuum entfernt. Das Rohprodukt wurde ohne weitere Reinigung für den nächsten Syntheseschritt verwendet.

Ausbeute: 1,35 g (2,18 mmol) Öl, HPLC: 47,89 % B

1f) 3-(COOMe)-Benzylsulfonyl-dSer(tBu)-Gly-4-(Amidino)Benzylamid x Acetat
1 g (1,61 mmol) 3-(COOMe)-Benzylsulfonyl-dSer(tBu)-Gly-4-(Acetyloxamidino)-Benzylamid wurden in 65 ml 90 % Essigsäure gelöst, mit 150 mg Katalysator (10 % Pd auf Aktivkohle) versetzt und über Nacht mit Wasserstoff hydriert. Der Katalysator wurde abfiltriert und das Lösungsmittel im Vakuum eingengt. Der verbleibende Rückstand wurde mit Toluol versetzt, danach wurde das Lösungsmittel im Vakuum wieder entfernt. Dieser Vorgang wurde nochmals wiederholt.

Der verbleibende Rückstand wurde direkt für den nächsten Reaktionsschritt verwendet.

Ausbeute: 0,9 g (1,44 mmol) Feststoff, HPLC: 39,75 % B

Ca. 50 mg des Rohproduktes wurden mit präparativer reversed-phase HPLC gereinigt und lyophilisiert.

MS: berechnet 561,2 (monoisotopic), gefunden 562,9 $[M+H]^+$

1g) 3-(COOH)-Benzylsulfonyl-dSer(tBu)-Gly-4-(Amidino)Benzylamid x TFA

750 mg (1,2 mmol) 3-(COOMe)-Benzylsulfonyl-dSer(tBu)-Gly-4-(Amidino)-Benzylamid x Acetat wurden in 20 ml Methanol und 10 ml Wasser gelöst und mit 4 ml 1 N LiOH versetzt. Der Ansatz wurde über Nacht gerührt, nach ca. 15 h mit 5 % KHSO₄ neutralisiert (pH 6-7) und das Lösungsmittel im Vakuum entfernt. Das Rohprodukt wurde mittels präparativer reversed-phase HPLC gereinigt und lyophilisiert.

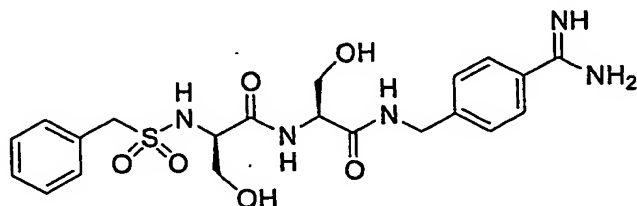
15 HPLC: 34,16 % B (weißer Feststoff)

1 h) 3-(COOH)-Benzylsulfonyl-dSer-Gly-4-(Amidino)Benzylamid

100 mg (0,151 mmol) 3-(COOH)-Benzylsulfonyl-dSer(tBu)-Gly-4-(Amidino)-Benzylamid wurden mit 0,5 ml Wasser und 4,5 ml Trifluoressigsäure versetzt. Der Ansatz wurde 60 min bei Raumtemperatur belassen und danach das Lösungsmittel im Vakuum eingengt. Der Rückstand wurde in Wasser gelöst und lyophilisiert.

Ausbeute: 91 mg (weißer Feststoff) HPLC: 23,47 % B

Beispiel 2: Benzylsulfonyl-dSer-Ser-4-Amidinobenzylamid x TFA



5

2a) Boc-Ser(Bzl)-4-(Acetyloxamidino)Benzylamid

4,847 g (16,41 mmol) Boc-Ser(Bzl)-OH wurden in 50 ml THF gelöst und bei -15 °C mit 1,805 ml (16,41 mmol) NMM und 2,133 ml CKBIE versetzt. Der Ansatz wurde 10 min bei -15 °C gerührt, dann wurden 4 g (16,41 mmol) 4-(Acetyloxamidino)Benzylamin x HCl (hergestellt wie in WO 01/96286 A2 beschrieben) und nochmals 1,805 ml (16,41 mmol) NMM hinzugefügt. Der Ansatz wurde eine weitere Stunde bei -15 °C und über Nacht bei Raumtemperatur gerührt. Das Lösungsmittel wurde im Vakuum entfernt, der Ansatz in Essigester aufgenommen und jeweils 3 x mit 5 % KHSO₄, NaCl-gesättigtem Wasser, gesättigter NaHCO₃-Lösung und nochmals mit NaCl-gesättigtem Wasser gewaschen und mit Na₂SO₄ getrocknet. Das Lösungsmittel wurde im Vakuum entfernt und das Produkt aus Essigester kristallisiert.

15

Ausbeute: 5,8 g (11,98 mmol) weiße Kristalle, HPLC: 50,78 % B

20

2b) H-Ser(Bzl)-4-(Acetyloxamidino)Benzylamid x HCl

2 g (4,12 mmol) Boc-Ser(Bzl)-4-(Acetyloxamidino)Benzylamid wurden mit 30 ml 1 N HCl in Eisessig versetzt. Nach 45 min Stehen bei Raumtemperatur wurde das Lösungsmittel teilweise eingengt und das Produkt durch Zugabe von Die-

thylether gefällt, abgesaugt und nochmals mit Diethylether gewaschen. Das Produkt wurde im Vakuum getrocknet.

Ausbeute: 1,6 g (3,8 mmol) weißer Feststoff, HPLC: 28,51 % B

5 2c) Bzls-dSer(tBu)-Ser(Bzl)-4-(Acetyloxamidino)Benzylamid

0,75 g (2,376 mmol) Bzls-dSer(tBu)-OH und 1 g (2,376 mmol) H-Ser(Bzl)-4-(Acetyloxamidino)Benzylamid x HCl wurden in 20 ml DMF gelöst und bei 0 °C mit 1,236 g (2,376 mmol) PyBop und 1,033 ml (5,94 mmol) DIEA versetzt. Der Ansatz wurde 30 min bei 0 °C und weitere 4 h bei Raumtemperatur gerührt. Das Lösungsmittel wurde im Vakuum entfernt, der Rückstand in Essigester aufgenommen und jeweils 3 x mit 5 % KHSO₄, NaCl-gesättigtem Wasser, gesättigter NaHCO₃-Lösung und nochmals mit NaCl-gesättigtem Wasser gewaschen und anschließend mit Na₂SO₄ getrocknet. Das Lösungsmittel wurde im Vakuum entfernt. Es verblieb ein öliges Rohprodukt, das direkt für den nächsten Syntheseschritt eingesetzt wurde.

Ausbeute: 1,15 g (1,69 mmol) Öl, HPLC: 60,48 % B

2d) Bzls-dSer(tBu)-Ser(Bzl)-4-(Amidino)Benzylamid x Acetat

1 g (1,467 mmol) Bzls-dSer(tBu)-Ser(Bzl)-4-(Acetyloxamidino)Benzylamid wurden in 50 ml 90 % Essigsäure gelöst, dazu wurden 150 mg Katalysator (10 % Pd/C) gegeben. Der Ansatz wurde 6 h bei Raumtemperatur und Normaldruck mit Wasserstoff hydriert. Anschließend wurde der Katalysator abfiltriert, das Lösungsmittel im Vakuum eingeeengt und mit Toluol versetzt. Das Lösungsmittel wurde im Vakuum entfernt, der Vorgang wurde noch 2 x wiederholt. Der verbleibende Rückstand wurde im Vakuum getrocknet und ohne weitere Reinigung für den nächsten Syntheseschritt eingesetzt.

Ausbeute: 0,9 g (1,316 mmol) Öl, HPLC: 49,91 % B.

2e) Bzls-dSer-Ser-4-(Amidino)Benzylamid x TFA (JT-463)

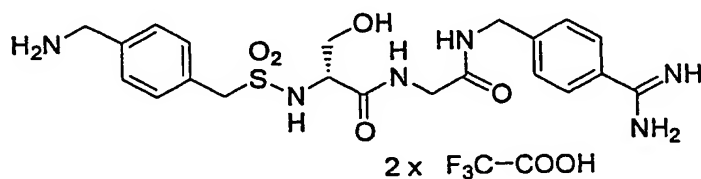
0,2 g Rohprodukt an Bzls-dSer(tBu)-Ser(Bzl)-4-(Amidino)Benzylamid x Acetat wurden unter Eiskühlung mit 5 ml TFA versetzt. Nach 10 min wurden 500 µl Trifluormethansulfonsäure hinzugefügt. Nach weiteren 5 min wurde das Eisbad entfernt und der Ansatz 20 min bei Raumtemperatur stehen gelassen. Das Produkt wurde durch Zugabe von Diethylether gefällt und abzentrifugiert. Das Präzipitat wurde nochmals mit Diethylether versetzt, aufgeschüttelt und nochmals zentrifugiert. Das Präzipitat wurde mit präparativer reversed-phase HPLC gereinigt.

10 Ausbeute: 75 mg, HPLC: 24,64 % B

MS: berechnet 477,17 (monoisotopic), gefunden 478,6 [M+H]⁺

Beispiel 3: 4-(Aminomethyl)Benzylsulfonyl-dSer-Gly-4-Amidinobenzylamid x 2 TFA

15



3a) 4-Cyano-Benzylsulfonsäure Natrium-Salz

30 g (153 mmol) 4-Cyanobenzylbromid (Aldrich) wurden in 150 ml Wasser suspendiert und nach Zugabe von 21,2 g (168,3 mmol) Na₂SO₃ 8 h unter Rückfluß gekocht. Der Ansatz wurde heiß filtriert und das Wasser im Vakuum etwas eingengt. Der Ansatz wurde zur Kristallisation über Nacht im Kühlschrank aufbewahrt, danach wurden die Kristalle abgesaugt und nochmals aus Wasser umkristallisiert. Die Kristalle wurden abgesaugt und im Vakuum getrocknet.

25 Ausbeute: 17,1 g (78 mmol), HPLC: 18,24 % B

3b) 4-Cyano-Benzylsulfonylchlorid

5 g (22,83 mmol) 4-Cyano-Benzylsulfonsäure Natrium-Salz wurden mit ca. 20 ml Phosphorylchlorid angefeuchtet und mit 5,2 g (25,11 mmol) PCl_5 versetzt und 15 min unter Eiskühlung gerührt. Anschließend wurde der Ansatz 4 h auf 80 °C erwärmt. Danach wurde der Ansatz auf Eis gegossen und 30 min kräftig gerührt, das Produkt schied sich als weißer Feststoff auf dem Eis ab. Nachdem das Eis teilweise aufgetaut war, wurde der Ansatz durch eine Fritte filtriert und das verbleibende Produkt-Eis-Gemisch mehrmals mit Wasser gewaschen. Die verbleibenden Kristalle wurden im Vakuum getrocknet und direkt für den nächsten Syntheseschritt verwendet.

Ausbeute: 3,4 g (15,76 mmol)

3c) 4-Cyano-Benzylsulfonyl-dSer(tBu)-OH

1 g (6,2 mmol) H-dSer(tBu)-OH (Bachem) wurden in 50 ml trockenem DCM suspendiert, mit 1,65 ml (13 mmol) Trimethylsilylchlorid und 2,26 ml (13 mmol) DIEA versetzt. Der Ansatz wurde 1 h unter Rückfluß gekocht und im Eisbad abgekühlt. Anschließend wurden 1,47 g (6,82 mmol) 4-Cyano-Benzylsulfonylchlorid und 1,19 ml (6,82 mmol) DIEA innerhalb von 30 min zugesetzt. Der Ansatz wurde weitere 15 min unter Eiskühlung und danach für weitere 3 h bei Raumtemperatur gerührt. Das Lösungsmittel wurde im Vakuum entfernt, der Rückstand in Wasser (mit 1 N NaOH auf pH 8,5-9 gebracht) gelöst und 2 x mit Ether extrahiert. Anschließend wurde die wässrige Phase mit 5 % KHSO_4 -Lösung angesäuert und 3 x mit Essigester extrahiert. Die vereinte Essigesterphase wurde jeweils 3 x mit 5 % KHSO_4 -Lösung und NaCl-gesättigter Lösung gewaschen und mit Na_2SO_4 getrocknet. Das Lösungsmittel wurde im Vakuum entfernt.

Ausbeute: 1,4 g (4,11 mmol Feststoff), HPLC: 48,89 % B

3d) 4-Cyano-Benzylsulfonyl-dSer(tBu)-Gly-4-(Acetyloxamidino)Benzylamid

1 g (2,94 mmol) 4-Cyano-Benzylsulfonyl-dSer(tBu)-OH und 0,884 g (2,94 mmol) H-Gly-4-(Acetyloxamidino)Benzylamid x HCl (siehe Beispiel 1d) wurden unter Rühren und Eiskühlung in 15 ml DMF gelöst und mit 1,53 g (2,94 mmol) PyBop sowie 1,38 ml (7,94 mmol) DIEA versetzt. Nach 30 min wurde das Eisbad entfernt und der Ansatz weitere 4 h bei Raumtemperatur gerührt. Das DMF wurde im Vakuum eingeeengt, der verbleibende Rückstand in Essigester gelöst und jeweils 3 x mit 5 % KHSO₄, NaCl-gesättigtem Wasser, gesättigter NaHCO₃-Lösung und nochmals mit NaCl-gesättigtem Wasser gewaschen und mit Na₂SO₄ getrocknet. Das Lösungsmittel wurde im Vakuum entfernt. Das Rohprodukt wurde ohne weitere Reinigung für den nächsten Syntheseschritt verwendet.

Ausbeute: 1,4 g (2,386 mmol) Öl, HPLC: 46,05 % B

3e) 4-Cyano-Benzylsulfonyl-dSer(tBu)-Gly-4-(Amidino)Benzylamid x Acetat

1 g (1,7 mmol) 4-Cyano-Benzylsulfonyl-dSer(tBu)-Gly-4-(Acetyloxamidino)-Benzylamid wurden in 70 ml 90 % Essigsäure gelöst, mit 150 mg Katalysator (10 % Pd auf Aktivkohle) versetzt und 5 h mit Wasserstoff hydriert. Der Katalysator wurde abfiltriert und das Lösungsmittel eingeeengt. Der verbleibende Rückstand wurde mit Toluol versetzt, anschließend wurde das Lösungsmittel im Vakuum entfernt. Dieser Vorgang wurde nochmals wiederholt. Der verbleibende Rückstand wurde direkt für den nächsten Reaktionsschritt verwendet.

Ausbeute: 0,85 g (1,44 mmol als Acetat-Salz) Feststoff HPLC: 37,55 % B

Ca. 60 mg dieses Rohproduktes wurden mit präparativer HPLC gereinigt.

MS: berechnet 528,2 (monoisotopic), gefunden 530,1 [M+H]⁺

3f) 4-Aminomethyl-Benzylsulfonyl-dSer(tBu)-Gly-4-(Amidino)Benzylamid x 2 TFA

200 mg Rohprodukt an 4-Cyano-Benzylsulfonyl-dSer(tBu)-Gly-4-(Amidino)-Benzylamid x Acetat wurden in 50 ml 90 % Essigsäure und 5 ml 1 N HCl gelöst, mit 40 mg Katalysator (10 % Pd auf Aktivkohle) versetzt und über Nacht bei 40

°C mit Wasserstoff hydriert. Der Katalysator wurde abfiltriert und das Lösungsmittel im Vakuum eingengt. Der verbleibende Rückstand wurde mit präparativer reversed phase HPLC gereinigt.

Ausbeute: 75 mg (als 2 x TFA-Salz) Feststoff HPLC: 26,05 % B

5 MS: berechnet 532,25 (monoisotopic), gefunden 533,7 [M+H]⁺

3g) 4-Aminomethyl-Benzylsulfonyl-dSer-Gly-4-(Amidino)Benzylamid x 2 TFA

25 mg (0,033 mmol) 4-Aminomethyl-Benzylsulfonyl-dSer(tBu)-Gly-4-(Amidino)-Benzylamid x 2 TFA wurden mit 0,2 ml Wasser und 1,8 ml TFA versetzt. Der Ansatz wurde 60 min bei Raumtemperatur belassen und das Lösungsmittel im Vakuum eingengt. Der Rückstand wurde mit ca. 10 ml Wasser versetzt und lyophilisiert.

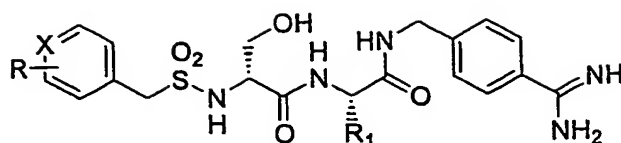
Ausbeute: 20 mg (schwach gelblicher Feststoff) HPLC: 15,4 % B

MS: berechnet 476,18 (monoisotopic), gefunden 477,5 [M+H]⁺

15

Analytische HPLC

Shimadzu LC-10A System, Säule: Vydac C₁₈, 5 µm (250 x 4 mm) Lösungsmittel B: 0,1 % TFA in ACN, Gradient: 10 % B bis 60 % B in 50 min, 1 ml/min Fluß, Detektion bei 220 oder 215 nm.



R	X	R1	K _i (μM)				t _{1/2} (h)
			uPA	Plas-min	Tryp-sin	Throm-bin	
H	CH	H	0,036	11	0,15	13	0,29
3-COOMe	CH	H	0,12	28	0,29	42	n.b.*
3-COOH	CH	H	0,16	59	0,72	150	1,3
4-COOMe	CH	H	0,62	17	0,18	9,4	n.b.
4-COOH	CH	H	0,15	35	0,48	170	2,0
2-COOMe	CH	H	0,083	38	0,40	4,0	n.b.
2-COOH	CH	H	0,37	220	2,4	56	n.b.
4-COOH	CH	CH ₃	0,038	3,0	0,013	2,3	0,66
3-COOH	CH	CH ₃	0,030	4,7	0,021	8,3	0,42
4-CN	CH	CH	0,089	27	0,34	8,5	n.b.
4-(NH ₂ -CH ₂)	CH	H	0,12	7,4	0,28	8,0	n.b.
H	CH	CH ₂ -OH	0,025	0,75	0,022	14	0,50
H	CH	CH ₂ -O(Bzl)	0,028	0,27	0,0068	0,48	n.b.
H	CH	CH ₂ -NH ₂	0,036	0,81	0,021	0,78	0,40
H	CH	CH(OH)CH ₃	0,11	1,4	0,03	4,0	n.b.
H	CH	CH(OBzl)CH ₃	0,061	1,1	0,011	0,10	n.b.
3-COOH	CH	CH ₂ -OH	0,075	4,2	0,058	200	0,43
4-COOH	CH	CH ₂ -OH	0,23	6,2	0,10	120	0,43
4-COOMe	CH	CH ₂ -OH	0,23	0,96	0,020	4,2	n.b.
4-Cl	CH	H	0,032	32	0,35	7,9	n.b.
4-Me	CH	H	0,058	18	0,21	8,0	n.b.
4-F	CH	H	0,031	20	0,11	7,9	n.b.
3,4-Di-Cl	CH	H	0,11	32	0,60	8,3	n.b.
H	N	H	0,10	37	0,41	1,6	n.b.

5 Tabelle 1: Hemmkonstanten (K_i in μM) und Halbwertszeiten (t_{1/2} in h) der Elimination (β-Phase) in Ratten nach intravenöser Gabe von 1 mg/kg für Inhibitoren der allgemeinen Struktur. Die Bestimmung der Konstanten Hemmkonstanten (K_i und t_{1/2}) erfolgte für uPA wie in Stützebecher et al., (1997) J Med Chem Vol. 40, 3091-3099 beschrieben und für Plasmin, Trypsin und Thrombin analog hierzu.

10 * n.b. = nicht bestimmt

Verwendete Abkürzungen:

	Ac	Acetyl
	Boc	tert.-Butyloxycarbonyl
5	Bzl	Benzyl
	Bzls	Benzylsulfonyl
	CKIBE	Chlorkohlensäureisobutylester
	DIEA	Diisopropylethylamin
	DMF	N,N-Dimethylformamid
10	dSer	D-Serin
	i.V.	im Vakuum
	NMM	N-Methylmorpholin
	PyBOP	Benzotriazol-1-yl-N-oxy-tris(pyrrolidino)phosphoniumhexafluoro- phosphat
15	TEA	Triethylamin
	TFA	Trifluoressigsäure
	THF	Tetrahydrofuran
	CMe	Cyclohexylmethyl
	iBu	iso-butyl

Zusammenfassung

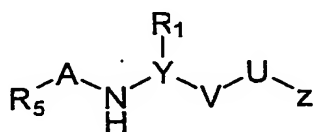
Die Erfindung betrifft neue Hemmstoffe der Urokinase, ihre Herstellung und Verwendung zur Therapie, Prophylaxe und Diagnose eines Tumors.

Curacyte AG

26. September 2002
C37296A BÖ/ATe

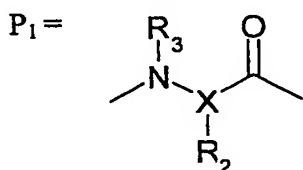
Patentansprüche

1. Verbindung der allgemeinen Formel I

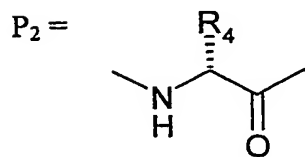


wobei

10 A P₂—P₁ mit



und



ist;

25 R₁ H oder -(CH₂)_aCOOR₆ mit a = 0, 1, 2, 3, 4 oder 5, vorzugsweise mit a = 0, 1 oder 2, ist, wobei R₆ ein verzweigter oder unverzweigter Alkylrest mit vorzugsweise 1 bis 6 C-Atomen, insbesondere 1 bis 3 C-Atomen, vor allem Ethyl, ist;

R₂ ein H, ein verzweigter oder unverzweigter Alkylrest mit 1 bis 8 C-Atomen vorzugsweise mit 1 bis 3 C-Atomen, oder

$-(CH_2)_cCOOR_8$ mit $c = 1, 2, 3$ oder 4 , wobei R_8 H oder ein verzweigter oder unverzweigter Alkylrest mit vorzugsweise 1 bis 6 C-Atomen, insbesondere 1 bis 3 C-Atomen, vor allem Ethyl, ist, oder

$-(CH_2)_d-OR_9$ mit $d = 1, 2, 3$ oder 4 , wobei R_9 H ist, oder

5 $-(CH_2)_eOR_{10}$, $-(CH_2)_eSR_{10}$, $-(CH_2)_e$ -Guanidino, $-(CH_2)_e$ -Imidazol oder $-(CH_2)_eNHR_{10}$ mit $e = 1, 2, 3, 4$ oder 5 ist, wobei R_{10} ein verzweigter oder unverzweigter Alkylrest mit 1-16, insbesondere 1-8, vor allem 1-3 C-Atomen oder ein substituierter oder unsubstituierter Aryl-, Heteroaryl-, Aralkyl- oder Heteroaralkylrest ist, wobei der Alkylrest vorzugsweise 1 bis 16, insbesondere 1 bis 8, vor allem 1 bis 3 C-Atome, und der Aryl- oder Heteroarylrest vorzugsweise 4 bis 14, insbesondere 6 bis 10, vor allem 6 C-Atome und vorzugsweise 1 bis 3 N als Heteroatom besitzt, oder

15 $-(CH_2)_kO-CO-OR_{16}$ mit $k = 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7$ oder 8 ist, wobei R_{16} ein verzweigtes oder unverzweigtes Alkyl mit 1-16, vorzugsweise 1-8, insbesondere 1-4, vor allem 1-2 C-Atomen, ein substituierter oder unsubstituierter Aryl-, Heteroaryl-, Aralkyl- oder Heteroaralkylrest, ein Adamantyl-, ein Campher-, ein Cyclohexylmethylrest, vorzugsweise Benzyl, ist;

20 R_3 H oder $-(CH_2)_bR_7$ mit $b = 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7$ oder 8 , vorzugsweise mit $b = 2$ oder 3 , ist, wobei R_7 H, ein verzweigter oder unverzweigter Alkylrest mit 1 bis 10 C-Atomen, vorzugsweise mit 1 bis 3 C-Atomen, oder ein geladener Rest, vorzugsweise einer $-(CH_2)_jCOOR_{13}$, $-(CH_2)_jSO_2R_{13}$, $-(CH_2)_jNH_2$, $-(CH_2)_j$ -Amidino-, $-(CH_2)_j$ -Hydroxyamidino- oder $-(CH_2)_j$ -Guanidino-Gruppe mit $j = 0, 1$ oder 2 ist, wobei R_{13} H oder ein Alkylrest mit vor-

25 zugsweise 1 bis 6 C-Atomen, insbesondere 1 bis 4, vor allem Ethyl, ist;

R_4 ein verzweigter oder unverzweigter Alkylrest mit 1 bis 8, vorzugsweise 1 bis 3, C-Atomen, $-(CH_2)_fOR_{11}$, $-(CH_2)_fSR_{11}$, oder $-(CH_2)_fNHR_{11}$ mit $f = 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7$ oder 8 ist, wobei R_{11} H oder $-CO-OR_{17}$ ist, wobei R_{17} ein

verzweigtes oder unverzweigtes Alkyl mit 1-16, vorzugsweise 1-8, insbesondere 1-4, vor allem 1-2 C-Atomen, ein substituierter oder unsubstituierter Aryl-, Heteroaryl-, Aralkyl- oder Heteroaralkylrest, ein Adamantyl-, ein Campher-, ein Cyclohexylmethylrest, vorzugsweise Benzyl, ist;

5

R_5 $-(CH_2)_g(CH_3)_h$, $-(CH_2)_i$ -Aryl mit $g + h = i = 0, 1, 2$ oder 3, $-SO_2R_{12}$, $-COR_{12}$, oder $-COOR_{12}$ ist, wobei R_{12} ein verzweigtes oder unverzweigtes Alkyl mit 1-16, vorzugsweise 1 bis 8, insbesondere 1 bis 4, vor allem 1 bis 2 C-Atomen, ein substituierter oder unsubstituierter Aryl-, Heteroaryl-, Aralkyl- oder Heteroaralkylrest, ein Adamantyl-, ein Campher-, ein Cyclohexylmethylrest, vorzugsweise Benzyl, ist;

15

wobei R_5 mit einer geladenen oder ungeladenen Gruppe, vorzugsweise einer $-(CH_2)_jCOOR_{13}$, $-(CH_2)_jSO_2R_{13}$, $-(CH_2)_jNH_2$, $-(CH_2)_j$ -Amidino-, $-(CH_2)_j$ -Hydroxyamidino- oder $-(CH_2)_j$ -Guanidino-Gruppe mit $j = 0, 1$ oder 2 modifiziert sein kann, wobei R_{13} H oder ein Alkylrest mit vorzugsweise 1 bis 6 C-Atomen, insbesondere Ethyl, ist;

20

U ein Phenyl- oder Cyclohexylrest ist oder ein Heterophenyl- oder Heterocyclohexylrest mit vorzugsweise mindestens einem N, S oder O als Heteroatom, insbesondere Pyridin, Piperidin oder Pyrimidin, ist;

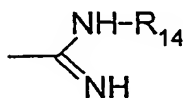
25

V $(CH_2)_n$ mit $n = 0, 1, 2$ oder 3, vorzugsweise 0, ist;

X N oder CH, vorzugsweise CH, ist;

Y N oder $(CH)_m$ mit $m = 0$ oder 1, vorzugsweise CH, ist;

Z in 3- oder 4-Position vorkommt und eine Aminomethyl-, eine Guanidino- oder eine Aminogruppe



ist, wobei R_{14} H, OH, NH, $-\text{COR}_{15}$ oder $-\text{COOR}_{15}$ ist, wobei R_{15} ein verzweigter oder unverzweigter Alkylrest mit 1 bis 16, vorzugsweise 1 bis 8, insbesondere 1 bis 4, vor allem 1 bis 2 C-Atomen oder ein substituierter oder unsubstituierter Aryl- oder Heteroaryl-, Aralkyl- oder Heteroaralkylrest ist, wobei der Alkylrest vorzugsweise 1 bis 16, insbesondere 1 bis 8, vor allem 1 bis 4 und besonders bevorzugt 1 bis 2 C-Atome und der Aryl- oder Heteroarylrest vorzugsweise 4 bis 14, insbesondere 6 bis 10, vor allem 6 C-Atome und vorzugsweise 1 bis 3 N als Heteroatom besitzt;

dadurch gekennzeichnet, dass ein oder mehrere geladene Reste vorzugsweise abgeleitet von $-\text{COOH}$, $-\text{CH}(\text{COOH})_2$, $-\text{SO}_2\text{H}$, NH_2 , einer Amidino-, Hydroxyamidino-, Amidrazono- oder Guanidinogruppe in den Resten R_1 , R_2 , R_3 oder R_5 vorhanden sind;

oder eine Verbindung der allgemeinen Formel I in Form eines Prodrugs oder in Form ihres Salzes.

2. Verbindung nach Anspruch 1, wobei U an 1, 2 oder 3 Positionen vorzugsweise mit einem Halogen, insbesondere Fluor oder Chlor, oder einem Methyl-, Ethyl-, Propyl-, Methoxy-, Ethoxy-, oder Propoxyrest substituiert ist.

3. Verbindung nach Anspruch 1 oder 2, wobei eine Carboxylgruppe als Ester, bevorzugt als Ethylester, geschützt vorliegt.

4. Verbindung nach mindestens einem der Ansprüche 1 bis 3 in Form eines Prodrugs, wobei R_9 und/oder R_{11} in diesem Fall ein Alkylcarbonyl-, Aralkylcarbonyl-, Alkyloxycarbonyl- oder Aralkyloxycarbonyl-Rest ist, wobei der Al-

kylrest vorzugsweise 1 bis 6, insbesondere 1 bis 4 C-Atome und der Arylrest vorzugsweise 5 bis 8, insbesondere 6 C-Atome besitzt.

5 5. Verbindung nach mindestens einem der Ansprüche 1 bis 4, dadurch gekennzeichnet, dass im Amidinobenzylamidrest die Amidinogruppe in 4-Position steht und dass A die Aminosäuren Glu — D-Ser bedeutet und dass R₅ ein mit einer Carboxylgruppe versehener Aryl- oder Aralkylsulfonyl-Rest mit 1 bis 16, vorzugsweise 1 bis 8, insbesondere 1 bis 4, vor allem 1 bis 2 C-Atomen im Alkylrest und 6 bis 14, vorzugsweise 6 bis 10, insbesondere 6 C-Atomen im Arylrest ist, der an Glu gebunden ist.

15 6. Verbindung nach mindestens einem der Ansprüche 1 bis 5, dadurch gekennzeichnet, dass der Substituent am substituierter Aryl-, Heteroaryl-, Aralkyl- oder Heteroaralkylrest ein Halogen, vorzugsweise Fluor, Chlor oder Brom, insbesondere Fluor oder Chlor, ist.

20 7. Verfahren zur Herstellung einer Verbindung gemäß mindestens einem der Ansprüche 1 bis 6, dadurch gekennzeichnet, dass sequentiell die entsprechenden Aminosäuren an ein 4-Acetyloxamidinobenzylamin angekoppelt werden, wobei die N-terminale Aminosäure entweder den R₅-Rest bereits trägt oder dieser anschließend daran gebunden wird.

25 8. Arzneimittel enthaltend eine Verbindung gemäß mindestens einem der Ansprüche 1 bis 6 sowie pharmazeutisch geeignete Hilfs- und/oder Zusatzstoffe.

9. Arzneimittel nach Anspruch 8, wobei das Arzneimittel in Form einer Tablette, eines Dragées, einer Kapsel, eines Pellets, Suppositoriums, einer Lösung, insbesondere einer Injektions- oder Infusionslösung, von Augen-, Nasen und Oh-

rentropfen, eines Safts, einer Kapsel, einer Emulsion oder Suspension, eines Globuli, Styli, Aerosols, Puders, einer Paste, Creme oder Salbe eingesetzt wird.

- 5 10. Verwendung einer Verbindung gemäß mindestens einem der Ansprüche 1 bis 6 oder eines Arzneimittels gemäß einem der Ansprüche 8 oder 9 zur Therapie oder Prophylaxe eines Tumors, insbesondere in oraler, subkutaner, intravenöser oder transdermaler Form.

- 10 11. Verwendung einer Verbindung gemäß mindestens einem der Ansprüche 1 bis 6 oder eines Arzneimittels gemäß einem der Ansprüche 8 oder 9 zur Diagnose eines Tumors.